

Analisis Stabilitas Senyawa Aktif Antioksidan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Pada Penggunaannya Sebagai Bahan Tambahan Pangan Alami

Stability Analysis of Active Compounds Antioxidants Rosella Flower petals (*Hibiscus sabdariffa* L.) As Natural Food Additives

Vivin Nopiyanti¹, Reslely Harjanti²

^{1,2} Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Abstrak

Penggunaan pewarna alami sebagai bahan tambahan pangan merupakan langkah yang lebih baik untuk mencegah penggunaan bahan tambahan pangan sintetik yang berbahaya. Banyak tanaman yang berpotensi sebagai sumber bahan tambahan pangan alami. Salah satunya adalah kelopak bunga rosella. Kepraktisan penggunaannya mendorong masyarakat beralih pada penggunaan bahan tambahan pangan alami tersebut, tetapi terkendala dengan daya simpannya yang tidak tahan lama. Kelopak bunga rosella mengandung pigmen antosianin dengan kadar yang relatif tinggi, sehingga mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber bahan tambahan pangan terutama sebagai zat pewarna yang bermanfaat bagi kesehatan karena kandungan gizinya serta zat aktif yang mempunyai aktivitas farmakologis di antaranya antioksidan. Etanol adalah pelarut yang diperbolehkan digunakan dalam bahan makanan (*food grade*) dalam batas tertentu. Etanol dapat berfungsi sebagai pengawet sehingga bahan makanan tidak mudah rusak. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis stabilitas kandungan senyawa aktif kelopak bunga rosella yang dibuat dalam bentuk sediaan ekstrak etanol supaya dapat digunakan masyarakat sebagai bahan tambahan pangan dengan daya simpan lama.

Penelitian ini dilakukan dengan cara membuat sediaan ekstrak etanol kelopak bunga rosella dengan metode maserasi dibandingkan dengan penggunaannya di masyarakat berupa rebusan. Senyawa aktif antioksidannya diidentifikasi dan ditetapkan aktivitas antioksidannya dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH. Stabilitas senyawa aktifnya dipantau dengan pengujian aktivitas antioksidan setelah digunakan dalam produk makanan.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga rosella sebagai bahan tambahan pangan yang masih mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 33,79 μ g/ml dibandingkan dengan nilai IC_{50} dari ekstrak etanol bunga rosella yaitu sebesar 8,416 μ g/ml. Ekstrak etanol mempunyai aktivitas antioksidan lebih baik jika dibandingkan dengan rebusan dengan nilai IC_{50} 19,74 μ g/ml

Keywords : kelopak bunga rosella, antioksidan, bahan tambahan pangan alami

PENDAHULUAN

Penggunaan pewarna alami sebagai bahan aditif makanan merupakan langkah yang lebih baik untuk mencegah penggunaan bahan aditif makanan yang berbahaya. Banyak tanaman yang berpotensi sebagai sumber bahan tambahan pangan alami. Salah satunya adalah

kelopak bunga rosella. Kepraktisan penggunaannya mendorong masyarakat beralih pada penggunaan bahan tambahan pangan salah satunya pewarna alami makanan.

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat mencegah sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul yang tidak stabil yang dikenal

sebagai radikal bebas (Deena *et al.* 2011). Radikal bebas menyebabkan kerusakan oksidasi pada lipid, protein, dan asam nukleat. Antioksidan sintesis seperti BHA, BHT, TBHQ dan propil galat dapat menyebabkan atau mempromosi efek negatif bagi kesehatan (Pourmorad *et al.* 2006; Karori *et al.* 2007).

Perhatian banyak ditingkatkan dalam pencarian untuk mendapatkan sumber antioksidan alami. Kebanyakan antioksidan adalah flavonoid, isoflavon, kumarin, lignin, antosianin, flavon dan isokatekin. Antioksidan diperoleh dari sumber makanan alami dan vitamin C, vitamin E, karoten dan tokoferol (Yalla *et al.* 2010). Dikarenakan keuntungan yang potensial bagi kesehatan dari antioksidan alami diharapkan dapat menjadi alternatif pengganti antioksidan sintetis. Senyawa polifenol seperti senyawa flavonoid mampu menghambat autooksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal bebas (*radical scavenging*) dengan cara menyumbangkan satu elektron dari elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas berkurang (Pokorny *et al.* 2001). Senyawa fenolik adalah senyawa penyusun yang keberadaannya luas dalam tanaman dan telah dipercaya mempunyai kapasitas antioksidan dan penangkap radikal bebas yang tinggi (Kahkonen *et al.* 2001). Aktivitas antioksidan senyawa dapat diukur dari kemampuannya menangkap radikal bebas. Senyawa-senyawa yang tergabung dalam antioksidan ini akan menyerahkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal

bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang normal kembali dan menghentikan berbagai kerusakan yang ditimbulkan (Caroline 2005).

Bunga rosella mengandung flavonoid, antosian, dan polifenol (Kuriyan *et al.* 2010). Senyawa aktif dari bunga rosella yaitu antosianin berupa 3-*sambubioside*, protein, lemak, serat, kalsium, fosfor, besi, karoten, tiamin, riboflavin, dan niasin selain itu asam askorbat dan fenol. Antosianin adalah kelompok pigmen yang menyebabkan warna kemerah-merahan, letaknya di dalam cairan sel yang bersifat larut dalam larutan polar. Larutan pengekstrak yang digunakan umumnya adalah aquadestillata dan etanol. Dipilihnya etanol sebagai pelarut dalam mengekstrak karena antosianin adalah pigmen yang sifatnya polar dan akan larut dengan baik dalam pelarut-pelarut polar, sementara aquadestillata digunakan sebagai pelarut pembanding dalam memperoleh antosianin yang terbaik.

Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (2,2- difenil-2-pikrilhidrazil). Senyawa DPPH adalah radikal yang distabilkan oleh delokalisasi elektron bebas secara menyeluruh dan menyebabkan DPPH tidak mudah membentuk dimer. Pencampuran radikal DPPH dengan substansi yang mampu menyumbangkan sebuah atom hidrogen akan memunculkan bentuk tereduksi yang ditunjukkan oleh perubahan warna ungu menjadi kuning. Perubahan ini dapat diukur secara spektrofotometri (Molyneux 2004).

Penggunaan antosianin yang terkandung dalam kelopak bunga rosella sebagai pewarna alami telah banyak digunakan oleh masyarakat karena kelopak bunga rosella memang berwarna merah. Penggunaan pewarna alami mempunyai kekurangan antara lain warna kurang stabil, tidak praktis dan mengganggu rasa serta aroma makanan. Oleh karena itu perlu dilakukan pembuatan pewarna alami dari kelopak bunga rosella dengan menggunakan teknik penyarian yang tepat supaya tidak terjadi hal tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan pembuatan pewarna alami dari kelopak bunga rosella dengan menggunakan teknik penyarian yang tepat supaya tidak terjadi hal tersebut. Penggunaan kelopak bunga rosella dalam keadaan segar dapat menyebabkan rasa yang pahit jika digunakan. Sehingga pembuatan pewarna kelopak bunga rosella dengan menggunakan simplisia yang telah dikeringkan (Moeksin, 2009)

Selain sebagai pewarna makanan, antosianin juga mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi yang terjadi selama proses penyimpanan bahan pangan. Sehingga antosianin juga dapat digunakan sebagai pengawet makanan. Pada umumnya di masyarakat kelopak bunga rosella digunakan dengan cara direbus dengan air. Tetapi penggunaan pelarut air untuk mengekstraksi zat aktif dalam kelopak bunga rosella yaitu antosianin mempunyai beberapa kekurangan di antaranya tidak tahan lama karena mudah ditumbuhi jamur. Walaupun penggunaannya cukup praktis tetapi

dinilai kurang menguntungkan. Sehingga pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 96%. Etanol adalah jenis pelarut polar yang diharapkan dapat mengekstraksi antosianin dalam kelopak bunga rosella.

Bahan makanan yang dibuat pada penelitian ini adalah agar-agar yang ditambah dengan pewarna merah dari kelopak bunga rosella. Pewarna kelopak bunga rosella dibuat dengan cara ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebagai pembanding dibuat pewarna dari kelopak bunga rosella yang dibuat dengan cara direbus. Kemudian akan dibandingkan aktivitas antioksidan masing-masing dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometri Ultraviolet-visibel.

Penelitian awal yang dilakukan menunjukkan bahwa 200 ppm ekstrak methanol kelopak bunga rosella memiliki efek yang lebih kuat dibandingkan dengan BHA dan α -tokoferol sebagai antioksidan yang dilihat dengan metode thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) dalam sistem asam linoleat (Pau-Ling Tee, *et al* 2002). Bunga rosella mengandung flavonoid, antosian, dan polifenol (Kuriyan *et al.* 2010). Moeksin *et al.* (2009) melaporkan pelarut terbaik untuk ekstraksi antosianin dari kelopak bunga rosella adalah dengan pelarut etanol (96%). Berdasarkan pustaka di atas maka pembuatan bahan tambahan dari kelopak bunga rosella dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96% pada simplisia yang telah dikeringkan. Potensi antioksidan daun rosella dinyatakan dengan harga IC₅₀ yang ditentukan secara

spektrofotometri pada panjang gelombang maksimal dengan spektrofotometer UV-Vis setelah pendiaman selama 30 menit pada suhu ruang (Caroline 2005). Harga IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi yang mampu menghambat 50 persen aktivitas radikal bebas DPPH pada periode waktu 30 menit (Molyneux, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa kelopak bunga rosella dapat dibuat menjadi bahan tambahan pangan dari dengan ekstraksi dengan pelarut etanol 96% dan mempunyai aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} . serta Aktivitas antioksidan ekstrak kelopak bunga rosella tetap stabil setelah digunakan sebagai bahan tambahan pangan alami.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat :

Kelopak Bunga Rosella, Agar-agar; reagensia yang digunakan yaitu : etanol p.a, NaOH, HCl pekat (E. Merck), serbuk DPPH (Sigma-Aldrich), pereaksi semprot. Alat-alat yang digunakan meliputi: plat Kromatografi Lapis Tipis GF 254 nm, Chamber, ayakan No.60, seperangkat alat maserasi, Beaker glass, vakum evaporator, batang pengaduk, kertas saring, labu takar, oven, pipa kapiler, vial, sudip, pengaduk magnetik 3 cm, corong gelas, bejana Erlenmeyer 250 ml, penangas air, panci, almari es, mikropipet, penggaris, gunting, kamera digital, eksikator, pipet tetes, pipet ukur 10,0 mL, timbangan analitik (Mettler, AT-200), spektrofotometer UV-Visible.

Tahapan Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelopak bunga rosella yang diambil di BP2TO2T daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Determinasi tanaman rosella

Determinasi dilakukan di laboratorium Morfologi dan sistematika Tumbuhan, Universitas Setia Budi. Determinasi bertujuan untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis berdasarkan studi pustaka.

Pembuatan ekstrak kelopak bunga rosella dan sediaan uji

Serbuk kering daun rosella diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut etanol 96%. Kemudian dilakukan evaporasi berdasarkan titik didih pelarut pada aquadestillata dengan temperatur 100°C dan etanol dengan temperatur 80°C. Evaporasi bertujuan untuk menguapkan dan mengambil pelarut yang masih bercampur dengan antosianin sehingga larutan menjadi pekat. Sebagai pembanding dibuat juga rebusan kelopak bunga rosella. Kelopak bunga rosella direbus dengan air sampai mendidih. Kemudian air rebusan disaring dan dipekatkan sampai kental. Ekstrak etanol dan rebusan kelopak bunga rosella diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan pengamatan terhadap profil KLT dengan menggunakan pereaksi semprot DPPH 0,2% dalam etanol. Ekstrak komponen aktif sebagai senyawa penangkap radikal bebas tampak sebagai bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu.

Penggunaan ekstrak etanol dan rebusan kelopak bunga rosella dilakukan pembuatan agar-agar dengan penambahan ekstrak kelopak bunga rosella yang dibuat dengan pelarut 96% serta dengan penambahan rebusan serta digunakan rebusan dengan air sebagai pembanding.

Penyiapan larutan

Larutan pereaksi adalah larutan DPPH 0,4 mM dalam pelarut etanol. Dibuat dengan menimbang 0,0158 gram serbuk DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, ditambahkan ke dalamnya etanol sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 0,4 mM yang dihitung terhadap BM DPPH sebesar 394,32 g/mol.

Ekstrak etanol dan masing-masing fraksi daun rosella masing-masing ditimbang 50 mg, dimasukkan labu takar 50 ml dan ditambahkan etanol sampai tanda batas sehingga didapat konsentrasi 1000 ppm, selanjutnya disebut sebagai larutan induk. Konsentrasi larutan uji dibuat dengan memipet larutan induk untuk mendapat 5 seri konsentrasi. Sebelum dilakukan pengujian terlebih dahulu ditetapkan *operating time* dari masing-masing larutan uji untuk mengetahui reaksi terhadap DPPH sudah berjalan stabil pada waktu yang diharapkan.

Uji Aktivitas

Tahapan awal adalah penentuan panjang gelombang (λ) maksimum larutan DPPH 0,4 mM untuk uji aktivitas antioksidan masing-masing fraksi dan ekstrak dari daun rosella, dilakukan sebagai berikut: 1,0 ml larutan DPPH 0,4 mM ditambah 4,0 ml etanol, dikocok homogen dan diamati

serapannya pada rentang 500-530 nm setelah pendiaman selama 30 menit. Kemudian dilanjutkan dengan penentuan *operating time*. Tahap berikutnya adalah Uji Aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak etanol, air rebusan, agar-agar yang ditambah dengan ekstrak etanol dan agar-agar yang ditambah dengan rebusan kelopak bunga rosella. Sebagai standar/pembanding ditetapkan juga kativitas antioksidan dari kuersetin yang sudah terbukti poten sebagai antioksidan.

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH yaitu sebanyak 4,0 ml ekstrak atau fraksi dengan berbagai konsentrasi ditambah dengan 1,0 ml DPPH 0,5 mM. Campuran divorteks dan dibiarkan selama 30 menit. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombangnya terhadap blanko (terdiri dari 4 ml ekstrak dan 1 ml etanol). Pengukuran absorbansi terhadap kontrol terdiri dari 1,0 ml DPPH dan 4,0 ml etanol).

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Absorbansi yang diperoleh selanjutnya digunakan pada pengukuran aktivitas penangkap radikal bebas dari berbagai konsentrasi uji. Nilai IC_{50} diperoleh dari suatu persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen penangkapan radikal bebas. Dari hasil yang diperoleh dipilih satu ekstrak atau fraksi yang memiliki nilai IC_{50} yang paling kecil. Aktivitas penangkap radikal DPPH dihitung dengan menggunakan rumus persen penangkapan radikal bebas, selanjutnya data yang diperoleh

diolah dengan persamaan regresi linier untuk menentukan IC₅₀.

Rumus persentase peredaman sebagai berikut : Persen penangkapan radikal bebas =

$$\frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

Kemudian ditentukan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan rebusan kelopak bunga rosella sebelum dan setelah digunakan sebagai bahan tambahan pangan dan dianalisis datanya untuk mengetahui adakah perbedaan yang bermakna pada masing-masing perlakuan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelopak bunga rosella yang telah dipanen kemudian dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan cemaran, ditiriskan dan disortir yang memenuhi persyaratan. Kemudian ditimbang berat basah kelopak bunga rosella tersebut. Selanjutnya dikeringkan dengan oven pada suhu 40° C. Setelah kering ditimbang. Pembuatan serbuk menggunakan alat penyerbuk lalu diayak dengan ayakan ukuran 60 Mesh. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian. Tahapan pengeringan juga umumnya dilakukan di masyarakat terhadap kelopak bunga rosella yang akan dikonsumsi sebagai minuman teh (minuman seduh/rebus).

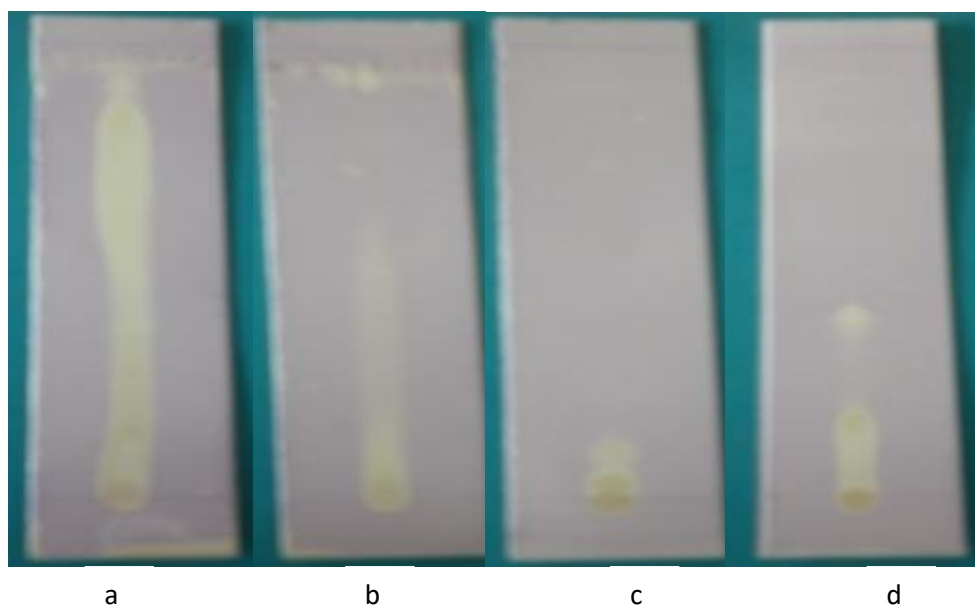
Pembuatan ekstrak dari kelopak bunga rosella.

Hasil ekstraksi yang didapatkan merupakan ekstrak cair sehingga harus

dievaporasi. Evaporasi dilakukan berdasarkan titik didih pelarut pada aquadestillata dengan temperatur 100°C dan etanol dengan temperatur 80°C. Evaporasi bertujuan untuk menguapkan dan mengambil pelarut yang masih bercampur dengan antosianin sehingga larutan menjadi pekat. Meskipun keberadaan etanol dalam ekstrak dapat juga bertindak sebagai pelarut tetapi dalam uji yang dilakukan dikuatirkan akan mempengaruhi aktivitas antioksidan. Sebagai pembanding dibuat rebusan kelopak bunga rosella dengan konsentrasi 100% b/v. Kelopak bunga rosella direbus dengan air sampai mendidih dengan konsentrasi pembuatan adalah 100%.

Pengujian aktivitas antioksidan kelopak bunga rosella dengan beberapa perlakuan

Sebelum ditetapkan aktivitas peredaman antioksidan dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis, terlebih dahulu masing-masing perlakuan yaitu ekstrak etanol kelopak bunga rosella, ekstrak yang digunakan dalam agar-agar, air rebusan kelopak bunga serta standar kuersetin diidentifikasi terlebih dahulu aktivitas antioksidannya dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengamatan terhadap profil KLT dengan menggunakan pereaksi semprot DPPH 0,2%. Ekstrak komponen aktif sebagai senyawa penangkap radikal bebas tampak sebagai bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu.



Gambar 1. Profil KLT hasil uji pendahuluan aktivitas penangkap radikal bebas dengan menggunakan pereaksi semprot DPPH 0,2% dengan fase gerak n-heksan: etil asetat (1:2, v/v) terhadap (a) kuersetin, (b) ekstrak etanol, (c) agar-agar, (d) rebusan

Uji penentuan aktivitas antioksidan

Penetapan aktivitas antioksidan yang telah dilakukan terhadap ekstrak etanol, air rebusan, agar-agar yang ditambah dengan ekstrak etanol dan agar-agar yang ditambah dengan rebusan kelopak bunga rosella dilakukan pada panjang gelombang maksimal yaitu 516 nm dan *operating time* yaitu 30 menit. Percobaan dilakukan dengan 5 seri konsentrasi yang sama antara 4 perlakuan dan

dilakukan 3 kali pengulangan. Nilai absorbansi yang diperoleh selanjutnya digunakan pada pengukuran aktivitas penangkap radikal bebas dari berbagai konsentrasi uji. Nilai IC_{50} diperoleh dari suatu persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen penangkapan radikal bebas. Dari hasil yang diperoleh dipilih satu ekstrak atau fraksi yang memiliki nilai IC_{50} yang paling kecil.

Tabel 1. Data penentuan aktivitas antioksidan standar kuersetin secara DPPH

Konsentrasi (µg/ml)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Absorbansi rata-rata	Aktivitas antioksidan (%)	$Y=42,265+1,2858X$ $r=0,972$ $IC_{50} = 6,02$ µg/ml
5	0,401	0,412	0,384	0,399	45,64	
10	0,320	0,299	0,311	0,310	57,77	
15	0,257	0,260	0,290	0,269	63,35	
20	0,233	0,241	0,226	0,230	68,66	
25	0,201	0,201	0,207	0,203	72,34	
Kontrol DPPH	0,736	0,733	0,733	0,734		

Tabel 2. Data penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga rosella secara DPPH

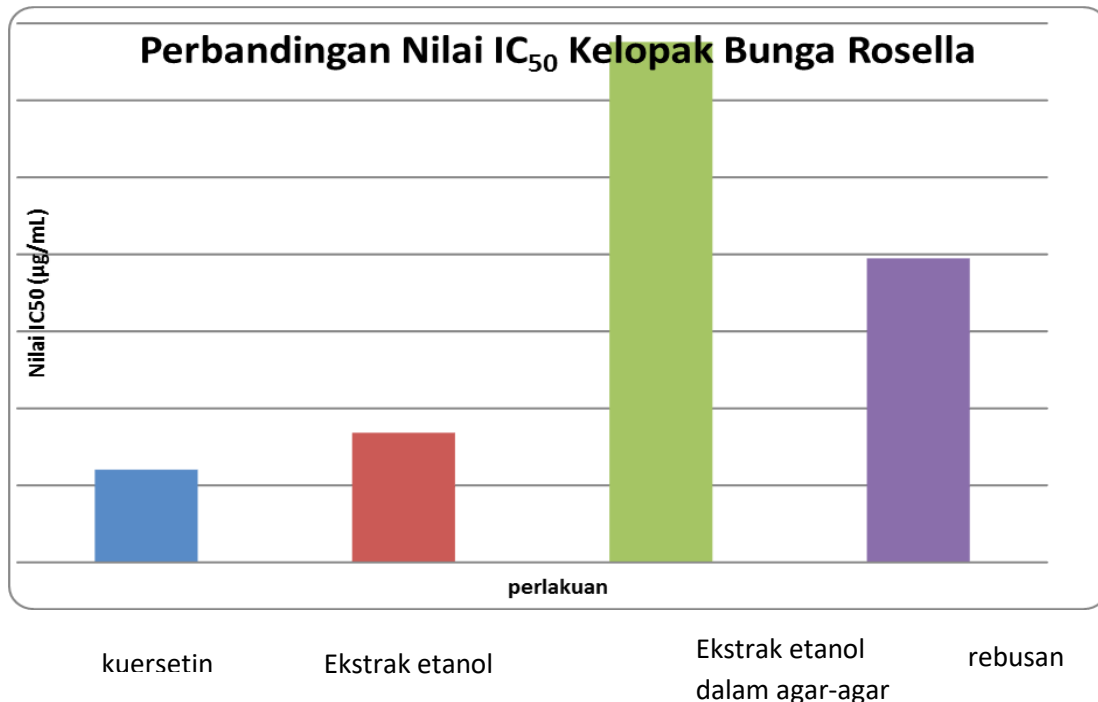
Konsentrasi (µg/ml)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Absorbansi rata-rata	Aktivitas antioksidan (%)	$Y=40,003+1,1878X$ $r=0,996$ $IC_{50}=8,416 \mu g/ml$
5	0,400	0,402	0,404	0,402	45,23	
10	0,356	0,354	0,340	0,350	52,32	
15	0,304	0,305	0,315	0,308	58,04	
20	0,250	0,257	0,267	0,258	64,85	
25	0,228	0,231	0,231	0,230	68,66	
Kontrol DPPH	0,734	0,734	0,735	0,734		

Tabel 3. Data penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga rosella dalam agar-agar secara DPPH

Konsentrasi (µg/ml)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Absorbansi rata-rata	Aktivitas antioksidan (%)	$Y = -0,009$ $+1,7758X$ $r = 0,936$ $IC_{50} = 33,79 \mu g/ml$
5	0,710	0,708	0,709	0,709	2,87	
10	0,675	0,675	0,677	0,677	7,39	
15	0,643	0,644	0,642	0,642	11,92	
20	0,584	0,584	0,583	0,583	20	
25	0,431	0,430	0,432	0,431	40,96	
Kontrol DPPH	0,730	0,730	0,730	0,730		

Tabel 4. Data penentuan aktivitas antioksidan rebusan bunga rosella secara DPPH

Konsentrasi (µg/ml)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Absorbansi rata-rata	Aktivitas antioksidan (%)	$Y=20,729+1,483X$ $r= 0,974$ $IC_{50} = 19,74 \mu g/ml$
5	0,540	0,561	0,564	0,555	24,89	
10	0,450	0,452	0,460	0,454	38,57	
15	0,410	0,400	0,396	0,402	45,60	
20	0,360	0,382	0,386	0,376	49,12	
25	0,312	0,336	0,312	0,320	56,69	
Kontrol DPPH	0,739	0,738	0,739	0,739		



Gambar 2. Perbandingan Nilai IC₅₀ Kelopak Bunga Rosella dalam beberapa perlakuan

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa kelopak bunga rosella dapat dibuat menjadi bahan tambahan makanan alami yaitu berupa ekstrak etanol yang pada penggunaannya sebagai bahan tambahan tetap mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ 33,79 µg/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih peneliti sampaikan kepada Dikti yang telah membiayai penelitian ini pada skema Penelitian Dosen Pemula tahun pendanaan 2016.

Daftar Pustaka (References)

Caroline, 2005, Uji Aktivitas Antioksidan Antiradikal Bebas dan Penentuan IC₅₀ dari Daun Cincau Hijau (*Cycla*

barbata Miers), *Jurnal Obat Bahan Alam*, Vol 4, 11, 12, 14.

Deena D.M., Lakshmil M.S., Kumar.S.A., Kumar.A.G., Basha.J.D., and Naganjaneyulu.R., 2011, Antioxidant Activity of *Sophora interrupta* Bedd, *International Journal of Phytopharmacology*, 43-47.

Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuoreia, H. J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., and Heinonen M., 2001, Antioxidant Activity of Extract Containing Phenolic Compounds, *J. Agric.FoodChem.*, 47, 3954-3962.

Karori, S.M., Wachira. F.N., Wanyoko, J.K., and Ngure, R.M., 2007, Antioxidant Capacity of *Orthosiphon stamineus* Benth from Different Geographical Origin, *Journal of Sustainability*

- Science and Management*, 2006. Vol. 1 (2): 14-20.
- Kuriyan, R., Kumar, R.D., Rajendran, R., and Kurpad, V.A. 2010, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10:27 <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/10/27>
- Moeksin R., Ronald, S.HP., 2009. Pengaruh kondisi, Perlakuan, dan Berat Sampel terhadap Ekstraksi antosianin dari Kelopak Bunga Rosella dengan pelarut Aquadest dan Etanol, *Jurnal Teknik Kimia*, No.4.Vol 16.
- Molyneux, P., 2004, The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, Songklanakarin *Journal of ScienceTechnology*, 2004, 26 (2) : 211-219.
- Pau-Ling Tee., Yusof. S., Mohamed, S., 2002, Antioxidative Properties of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Linoleic Acid Model System, *Journal of Nutrition and Food Science*, 32 (1): 17-20.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., and Shahabimajd, N., 2006, Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Content some Selected Iranian Medicinal Plants, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 5 (11), pp. 1142-1145.
- Pokorny, J., Yanishelvia, N., and Gordon, M., 2001, *Antioxidant in Food, Practical Applications*, CRC Press, New York, 1-73, 87-119, 147-155.
- Yalla, R. K., Kumar S., Lakshmi M., and Angothu S., 2010, Antioxidant Properties of Methanolic Extract Of *Oxalis Corniculata*, *International Journal of Phytopharmacology*, 43-46.